



Europäisches Patentamt  
European Patent Office  
Office européen des brevets



Veröffentlichungsnummer: **0 595 133 A2**

12

## EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

21 Anmeldenummer: **93116702.7**

22 Anmeldetag: **15.10.93**

51 Int. Cl.<sup>5</sup>: **C07H 13/08, C07H 15/203,  
A61K 47/48, C07H 13/04,  
C07H 13/10, C07H 13/12,  
C07H 17/00**

30 Priorität: **27.10.92 DE 4236237**

43 Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
**04.05.94 Patentblatt 94/18**

84 Benannte Vertragsstaaten:  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL  
PT SE**

71 Anmelder: **BEHRINGWERKE  
Aktiengesellschaft  
Postfach 1140  
D-35001 Marburg(DE)  
Anmelder: LABORATOIRES HOECHST S.A.  
  
F-92080 Paris la Défense Cédex 3(FR)**

72 Erfinder: **Bosslet, Klaus Dr.  
An der Haustatt 64  
D-35037 Marburg(DE)  
Erfinder: Czech, Jörg Dr.  
Kreutzacker 2a  
D-35041 Marburg(DE)  
Erfinder: Hoffmann, Dieter Dr.  
Feuerdornweg 12  
D-35041 Marburg(DE)**

Erfinder: **Kolar, Cenek Dr.  
Deutschhausstrasse 20  
D-35037 Marburg(DE)  
Erfinder: Tillequin, Francois Dr.  
70 rue de l Amiral Mouches  
F-75013 Paris(FR)  
Erfinder: Florent, Jean-Claude Dr.  
23 rue des Causus  
F-91940 Les Ulis(FR)  
Erfinder: Azoulay, Michel Dr.  
16 rue du Regard  
F-75006 Paris(FR)  
Erfinder: Monneret, Claude Prof.  
9 avenue Lamoricière  
F-75012 Paris(FR)  
Erfinder: Jacquesy, Jean-Claude Prof.  
46 rue du Planty  
F-86360 Buxerolles(FR)  
Erfinder: Gesson, Jean-Pierre Prof.  
"La Germonière", Montassie  
F-86360 Chansseneuil du Poitou(FR)  
Erfinder: Koch, Michel Prof.  
116 Elysées 2  
F-78170 La Celle Saint Cloud(FR)**

54 Prodrugs, ihre Herstellung und Verwendung als Arzneimittel.

57 Es werden Glykosyl-Spacer-Wirkstoff-Verbindungen (Prodrugs), ihre Herstellung sowie ihre Verwendung als Arzneimittel beschrieben.

Gruppe erhielt drei Injektionen von jeweils 300 mg/kg Prodrug zum Zeitpunkt 2, 5 und 8 Stunden nach der STA Injektion.

Wie Tabelle 4 zeigt, führten beide Behandlungsschemata mit der Prodrug zu einer signifikanten Reduktion der Entzündungsreaktion, wobei die dreimalige Substanzgabe der Standardtherapie mit dem Antinflammatorikum Ibuprofen leicht überlegen war.

Tabelle 4

Gruppe	24 h Fußschwellung
1 Negativkontrolle	0.82 ± 1.32
2 Positivkontrolle	10.7 ± 3.4
3 Prodrug, 500 mg/kg, 1x i.v. (t = + 2 h)	3.5 ± 3.9 <sup>x</sup>
4 Prodrug, 300 mg/kg, 3x i.v. (t = + 2, + 5, + 8 h)	1.1 ± 1.3 <sup>xx</sup>
5 Ibuprofen 200 mg/kg, 1 x p.o. (t = 0)	1.7 ± 2.2 <sup>xx</sup>
Signifikanzen gegen Positivkontrolle (Gruppe 2) nach Student t-Test	

x p < 0.01;

xx: p < 0.001

#### Beispiel 30

14-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-3-nitro-benzylaminocarbonyl]-doxorubicin (Prodrug) wurde gemäß D. Papahadjopoulos et al. (PNAS, USA 88:11460-11464, 1991) in "stealth"-Liposomen eingeschlossen. Nach i.v.-Injection in CD1 nu/nu Mäuse war die Plasmahalbwertszeit der in Liposomen eingeschlossenen Prodrug von ≈ 40 Stunden deutlich länger als die Plasmahalbwertszeit der freien Prodrug (≈ 20 min) (Daten nicht gezeigt). Diese signifikante t<sub>1/2β</sub> Verlängerung führte zu verbesserter pharmakologischer Wirksamkeit. Eine weniger deutliche Plasmahalbwertszeitverlängerung wurde durch Vorinkubation der Prodrug mit 50 g/l humanem Serumalbumin oder humanem sauren alpha-1 Glykoprotein erzielt.

#### Patentansprüche

1. Verwendung von Glykosyl-Spacer-Wirkstoff-Verbindungen zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten, bei denen intrazelluläre Enzyme freigesetzt werden oder durch Zellzerstörung zugänglich werden.
2. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Glycosylrest ein enzymatisch abspaltbares Mono-, Oligo- oder Polysaccharid darstellt.
3. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Wirkstoff eine Verbindung ist, die antitumorale oder antiinflammatorische oder immunsuppressive Eigenschaften hat, wobei der Wirkstoff eine kopplungsfähige OH- oder NH<sub>2</sub>-Gruppe enthält.
4. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Spacer selbsteliminierend ist, und/über O oder N an den Glykosylrest und über O oder N an den Wirkstoff gebunden ist.
5. Verbindung der Formel I

W

ein Aromat oder ein Heteroaromat oder ein Aliphat mit konjugierten Doppelbindungen oder eine nach Abspaltung des Glykosylrests zyklisierendes Aminosäurederivat, bei

dem die Substituenten

R unabhängig oder gleich H, Methyl, Methoxy, Carboxy, Methyloxycarbonyl, CN, Hydroxy, Nitro, Fluor, Chlor, Brom, Sulfonyl, Sulfonamid oder Sulfon (C<sub>1-4</sub>)-alkylamid sind,

5 p 0 oder 1,

n eine ganze Zahl,

X O, NH, methylenoxy, methylenamino oder methylen-(C<sub>1-4</sub>)-alkylamino und

Y O oder NH ist, und

Wirkstoff eine über eine Hydroxy-, Amino- oder Iminogruppe verknüpfte Verbindung mit biologischer Wirkung, außer bei p = 0 über eine 3'-Aminogruppe verknüpfte Anthrazykline, bedeutet.

10

6. Verbindung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß

W ein Aromat oder ein Heteroaromat oder ein Aliphat mit konjugierten Doppelbindungen oder eine nach Abspaltung des Glykosylrests zyklisierender Aminosäurederivatrest mit 5-20 Kohlenstoffatomen und 0-4 Heteroatomen, wobei Heteroatom N, O oder S bedeutet, ist, an den Substituenten gebunden sein können und

R, p, n, X, Y und Wirkstoff wie in Anspruch 5 definiert sind.

15

20

7. Verbindung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß

W ein Phenylrest oder ein mehrfach substituierter Phenylrest, bei dem die Substituenten

R unabhängig oder gleich H, Methyl, Methoxy, Carboxy, Methyloxycarbonyl, CN, Hydroxy, Nitro, Fluor, Chlor, Brom, Sulfon, Sulfonyl oder (C<sub>1-4</sub>)-alkylsulfon sind,

25 n 1 bis 4 und

p, X, Y und Wirkstoff wie in Anspruch 5 definiert sind.

8. Verbindung nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß

W ein Phenylrest oder ein monosubstituierter Phenylrest, bei dem einer der Substituenten

R Methoxy, Methyloxycarbonyl, CN, Hydroxy, Nitro, Fluor, Chlor, Brom, Sulfon oder Sulfonyl ist, die übrigen Wasserstoff sind, und

30 p, X, Y und Wirkstoff wie in Anspruch 5 definiert sind.

35

9. Verbindung nach Anspruch 5 dadurch gekennzeichnet, daß Wirkstoff ein bei p = 0 nicht über 3'-Aminogruppen verknüpftes Anthrazyklin

vorzugsweise Doxorubicin, 4'-epi-Doxorubicin, 4- oder 4'-Desoxydoxorubicin oder eine Verbindung vorzugsweise aus der Gruppe

40

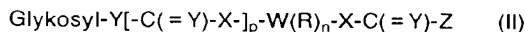
Etoposide, N-Bis-(2-chlorethyl)-4-hydroxyanilin, 4-Hydroxycyclophosphamid, Vindesin, Vinblastin, Vincristin, Terfenadin, Terbutalin, Fenoterol, Salbutamol, Muscarin, Oxyphenbutazon, Salicylsäure, p-Aminosalicylsäure, 5-Fluorouracil, 5-Fluorouridin, 5-Fluorocytidin, Methotrexat, Diclofenac, Flufenaminsäure, 4-Methylaminophenazon, Theophyllin, Nifedipin, Mitomycin C, Mitoxantron, Camptothecin, m-AMSA Taxol, Nocodaxol, Colchicin, Cyclophosphamid, Rachelmycin, Cisplatin, Melfhalan, Bleomycin, Stickstoff-Senfgas, Phosphoramid-Senfgas, Verrucaridin A, Neocarzinostatin, Calicheamicin, Dynemicin, Esperamicin A, Quercetin, Genistein, Erbstatin, Tyrphostin, Rohitukinderivat, Retinolsäure, Buttersäure, Phorbolster, DMSO, Aclacinomycin, Progesteron, Buserelin, Tamoxifen, Mifepriston, Onapriston, N-(4-aminobutyl)-5-chloro-2-naphtalen-sulfonamid, Pyridinyloxazol-2-on, Quinolin-, Isoquinolinylloxazolone-2-on, Staurosporin, Ethanolamin, Verapamil, Forskolin, 1,9-Dideoxyforskolin, Quinin, Quinidin, Reserpin, 18-O-(3,5-dimethoxy-4-hydroxybenzoyl)-reserpat, Lonidamin, Buthioninsulfoximin, Diethyldithiocarbamat, Cyclosporin A, Rapamycin, Azathioprin, Chlorambucil, Hydroxycrotonsäureamid-Derivat 2, 15-Deoxysper-

45

50

Der Begriff "Wirkstoff" oder "Wirkstoffe" bedeutet, daß ein oder mehrere biologisch aktive Substanzen oder Derivate bedeutet, wobei Wirkstoffe bevorzugt sind, die schon eine Hydroxy-, Amino- oder Iminogruppe tragen.

10. Verfahren zur Herstellung einer Verbindung nach Formel I in Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Phenyl-glycosid der Formel II,



worin

Glykosyl ein Poly-, Oligo oder Monosaccharid, dessen Hydroxygruppen frei oder mittels Acetyl- oder Mono-, Di- oder Trihalogenacetyl-Schutzgruppen mit Halogen Fluor oder Chlor oder Benzylschutzgruppen geschützt sind,

W, R, p, n, X, Y wie in Anspruch 5 definiert sind und

Z eine reaktive Abgangsgruppe ausgewählt aus der Gruppe Chlorid, Bromid, Azid oder N-Succinimid-oxy ist,

mit einem Wirkstoff wie in Anspruch 5 definiert in Gegenwart einer organischen Base ausgewählt aus der Gruppe Triethylamin, Diisopropylethylamin oder Dimethylaminopyridin und einem Lösungsmittel ausgewählt aus der Gruppe Acetonitril, Dioxan, Tetrahydrofuran, Dichlormethan oder Dichlorethan zu einer geschützten Zwischenverbindung umsetzt und anschließend die Schutzgruppen hydrolytisch mit Alkalilauge, Alkalicarbonat, Alkalicyanid, Bariumoxid, Piperidin oder Morpholin in Gegenwart von Methanol, Ethanol oder Wasser abspaltet, wobei eine Verbindung der Formel I entsteht.

11. 4'-O-[4-(alpha-D-Glucopyranosyloxy)-phenylaminocarbonyl]-etoposid, 4'-O-[4-(beta-D-Glucopyranosyloxy)-phenylaminocarbonyl]-etoposid, 4'-O-[4-(alpha-D-Galactopyranosyloxy)-phenylaminocarbonyl]-etoposid, 4'-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-phenylaminocarbonyl]-etoposid, 4'-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-3-nitro-benzylaminocarbonyl]-etoposid, 4'-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-3-chlorbenzylaminocarbonyl]-etoposid, 1-N-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzyloxycarbonyl]-mitomycin C, 14-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-3-nitro-benzylaminocarbonyl]-doxorubicin, 4-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-4-hydroxy-1-N-(bis-2-chlorethyl)-anilin, 4-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-terfenadin, 3'-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-terbutalin, 3'-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-fenoterol, 1''-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-salbutamol, 3-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-muscarin, 4'-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-oxyphenbutazon, 2-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylaminocarbonyl]-salicylsäure, N-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzyloxycarbonyl]-diclofenac, N-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzyloxycarbonyl]-flufenaminsäure, 4-N-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzylorycarbonyl]-4-methylaminophenazon, 7-N-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzyloxycarbonyl]-theophyllin, 1-N-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-benzyloxycarbonyl]-nifedipin, [4-(beta-D-glucuronyl)-3-nitrobenzyl]-2-[1-cyano-1-(N-4-trifluormethylphenyl)carbamoyl]-propen-1-yl-carbonat, N-[N-(alpha-D-Galactopyranosyloxycarbonyl)-4-hydroxymethyloxycarbonyl anilin]-doxorubicin, 9-O-[4-(beta-D-Glucuronyloxy)-3-chlorbenzyloxycarbonyl]-quinin oder 18-O-[3,5-dimethoxy-4-[4-(beta-D-glucuronyloxy)-3-chlorbenzyloxycarbonyl]benzoyl]-reserpat.

12. Verwendung nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung in Liposomen oder gebunden an Trägerproteine vorzugsweise humanes Serumalbumin oder humanes saures alpha-1 Glykoprotein vorliegt.

13. Verwendung nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, daß die Verbindung in Kombination mit einer Verbindung vorliegt, welche die "multi drug resistance" bricht, vorzugsweise Cyclosporin A, R-Verapamil, Pentoxifyllin oder Rapamycin.